OMAGGIO

R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA

LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

95

G. LUCHETTI

STUDIO MICROBIOLOGICO DI UN TERRENO TORBOSO DELLA BONIFICA DI VECCHIANO (LAGO DI MASSACIUCCOLI) AGRARIAMENTE STERILE.

Estratto dal *Bollettino del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa*
Volume X - Anno 1934.

PISA, STAB. TIP. G. CURSI & FIGLI
1934 - XIII

G. LUCHETTI

STUDIO MICROBIOLOGICO DI UN TERRENO TORBOSO DELLA BONIFICA DI VECCHIANO (LAGO DI MASSACIUCCOLI) AGRARIAMENTE STERILE.

Il terreno in esame è situato nella bonifica di Vecchiano, presso il Lago di Massaciuccoli.

Alla gentilezza dell'Ing. STUDIATI debbo le notizie sul quadro dei fenomeni che esso presenta e la possibilità del prelevamento stesso dei campioni.

La località in cui il terreno giace è da non molto soggetta a bonifica.

Il terreno di cui riferisco, come altri terreni vicini dello stesso comprensorio di bonifica, presenta la seguente anormalità: seminandovi frumento, questo germina quasi regolarmente, si sviluppa nei mesi invernali molto stentatamente ed all'inizio della primavera in breve tempo, invece di mostrare la ripresa vegetativa, prende un colore giallo-rossastro, poi bruno e rapidamente muore.

Unico rimedio contro questo inconveniente si è dimostrata la somministrazione di perfosfato minerale in forti dosi, fatta sia alla semina, sia alla fine dell'inverno, prima che il frumento entri nel periodo che si può chiamare "premortale". A nulla invece sono giovate, ad esempio, forti calcitazioni. Tale fatto si è verificato all'atto della messa a coltura di molte terre del comprensorio e ad esso non si è trovato altro rimedio che quello suddetto. Dopo un simile trattamento ripetuto per due o tre anni il terreno può dirsi "guarito" (ed è forse il termine più giusto perchè evidentemente siamo di fronte ad un caso patologico del suo complesso vitale).

Il fatto non è nuovo perchè manifestazioni simili si sono riscontrate in Olanda ("Veenkoloniale haverziekte" o "malattia olandese") con gli stessi cafatteri e gli stessi rimedi; e di essa riferisce HUDIG [1]

[1] – HUDIG S. – *Disease of Crops on alcaline and sour Soils.* – Report of the intern. Conf. of Phytopath. and. Economia Entomology; H. Veeman al Sons, Wageningen 1929.

per essere stata a lungo studiata dal personale della Stazione agraria sperimentale di Groningen nei terreni torbosi. La spiegazione esauriente del fenomeno non è però ancora trovata.

Per l' esame del terreno pensai che avrei potuto ottenere risultati migliori prendendo a considerare, insieme a questo, un altro terreno, di natura e composizione pressochè identiche, ma già a coltura da vari anni. Dal confronto fra i due, forse, si sarebbe potuto dedurre la causa del comportamento anormale di detto suolo.

Incominciai lo studio con una accurata analisi chimica dei due terreni, che riporto nella Tabella I. effettuata su due campioni di ciascun suolo, di cui uno prelevato alla profondità di cm. 10, l'altro alla profondità di cm. 30.

Per brevità distinguerò con il n° 1 il terreno sterile e con il n° 2 il terreno produttivo e di ciascuno, rispettivamente, con *a* il campione a profondità di cm. 10 e con *b* quello a profondità di cm. 30.

TABELLA I – *Analisi chimica dei terreni (valori %)*

Ricerca	Campione n° 1		Campione n° 2	
	a	b	a	b
Acqua igroscopica	8,42	9,63	7,84	8,37
Sostanza organica	23,62	24,48	20,57	21,92
Calcare (in $CaCO_3$)	15,10	15,60	14,30	13,80
Azoto	0,7934	0,7411	0,7707	0,7754
Anidride fosforica (totale) . . .	0,1715	0,1644	0,1937	0,1809
„ „ (sol. ac. citr. 2%)	0,0213	0,0230	0,0282	0,0286
Potassio (K_2O) totale	0,1635	0,1849	0,2120	0,2043
„ „ (sol. ac. citr. 2%) .	0,0183	0,0168	0,0191	0,0180
Cloro (Cl)	0,0429	0,0473	0,0512	0,0490
Solfati (SO_4) (solubili in acqua) .	0,0831	0,0857	0,0643	0,0588
Magnesio (MgO)	0,4576	0,4763	0,4158	0,3822
pH	6,5	6,5	6,1	5,9

Dall' annessa Tabella si possono trarre le seguenti conclusioni:

I – che nessuno degli elementi nutritivi essenziali manca nei due terreni, essendosi anche riscontrata qualitativamente la presenza di ferro.

II – che detti elementi sono contenuti in quantità tali da non lasciar dubbio sulla loro sufficienza: tale quantità risulta superiore a quella della grande maggioranza dei terreni coltivati.

III – che dal confronto tra le medie dei due campioni del terreno sterile e degli altri due del terreno a coltura quest' ultimo risulta contenere piccole quantità di azoto, anidride fosforica sia totale che solubile in acidi deboli, potassa e cloruri in più che nel primo, mentre contiene lievi quantità in meno di sostanza organica, acqua igroscopica, calcare, magnesio e solfati. Le differenze però non sono tali da potersi dire sostanziali ed attribuire una spiegazione al fatto che richiamò l' attenzione su questo suolo anormale.

Come conclusione quindi l'analisi chimica si dimostrò insufficiente, da sola, a spiegare i fatti. Pertanto decisi di compiere l' esame batteriologico dei due terreni, dei risultati del quale riferisco qui appresso.

Esame quantitativo della microflora

Con il terreno prelevato allestii piastre di agar-fagiuoli per la conta dei germi che eseguii al 7° ed al 15° giorno di coltura. Le medie ottenute da prove in quadruplo riporto nella Tabella II da cui si può desumere che il terreno coltivato ha un numero di germi quasi normale mentre il tasso batterico del terreno sterile è notevolmente basso, raggiungendo appena un terzo dell' altro nel campione superficiale. Nel campione a cm. 30. i due terreni si equivalgono.

TABELLA II – *Esame batteriologico quantitativo*

N° di germi in un grammo di terra

	Campione	Batteri	Attinomiceti	Funghi	Totale
Al 7° giorno di coltura	1 a	607.500	107.000	7.500	722.500
	1 b	320.000	70.000	10.000	400.000
	2 a	1955.000	142.000	20.000	2.117.500
	2 b	340.000	75.000	5.000	420.000
Al 15° giorno di coltura	1 a	790.000	110.000	7.500	907.500
	1 b	460.000	72.500	10.000	542.000
	2 a	2365.000	142.500	20.000	2.527.500
	2 b	427.500	100.000	5.000	532.500

La ripartizione dei germi rispetto al totale è la seguente:

	Batteri	Attinomiceti	Funghi
Campione 1 a	87,1 %	12,1 %	0,8 %
Campione 1 b	84,9 %	13,4 %	1,7 %
Campione 2 a	93,6 %	5,6 %	0,8 %
Campione 2 b	80,3 %	18,8 %	0,9 %

In media, quindi, la ripartizione è pressochè identica nei due terreni: in linea generica si noti la scarsa rappresentanza dei funghi all'opposto di quanto verificasi in altri terreni torbosi (1).

In conclusione, dal punto di vista batteriologico quantitativo ciò che varia è solo il numero assoluto di germi.

(1) – Per notizie in proposito veggasi:

O. VERONA – *Studio microbiologico di un terreno torboso* – Arch. f. Mikrobiologie – 5, 328, 1934 e Rend. R. Acc. Naz. dei Lincei, vol. XIX, ser. 6ª, fasc. 5, p. 354, 1934.

Esame batteriologico qualitativo

Dalle piastre allestite per l'esame quantitativo isolai tutti i funghi ed alcuni batteri od attinomiceti che studiai sommariamente.

Nel campione 1 trovai:

Penicillium sp.
Cladosporium sp.
Aspergillus sp.
Actinomyces albus (K) W. et C.
Bact. fluorescens liquefaciens Fl.

Nel campione 2, più ricco di forme, trovai:

Fusarium sp.
Alternaria sp.
Verticillium sp.
Actinomyces alb. (K)W et C.
„ *griseus* Krainsky
Bact. discoformans Zopf.
„ *fluorescens liquefaciens* Fl.
Bac. mycoides Flügge
Bact. violaceum (Schröter) L. et N.

La microflora dei due terreni si presenta adunque molto differente dal punto di vista qualitativo.

Esame delle attività microbiochimiche

A – *Ammonizzazione.*

I due terreni presentano un potere ammonizzante perfettamente identico, lievemente maggiore in profondità che in superficie.

Dalla media di quattro analisi su soluzione di peptone all' 1,5 % distillato dopo 4 giorni dall' inoculazione ebbi i risultati seguenti (NH_3 gr./litro).

Campione	1	a	1,37
		b	1,38
„	2	a	1,37
		b	1,38

B – *Denitrificazione.*

Da prove in quadruplo risultò un elevato potere riduttivo per i nitrati pressochè identico per i due terreni e precisamente (ore occorse per la completa denitrificazione):

Campione	1	a	51
		b	48
„	2	a	48
		b	48

C – *Nitrificazione.*

La misura del potere nitrificante di questi suoli rivelò, invece, forti differenze tra i due campioni e nello stesso campione enormemente differenti con la profondità come risulta dai dati medi seguenti desunti da prove in triplo (HNO_3 gr./litro):

Campione	1	a	0,80
		b	0,03
„	2	a	1,52
		b	0,07

D – *Azotofissazione.*

Un' altra prova in cui il terreno anormale si dimostrò inferiore a quello normale fu questa. Il potere di azotofissazione di questi due suoli risultò, da prove in doppio, il seguente (azoto guadagno gr. / litro):

			N iniziale	N finale	guadagno
Campione	1	a	0,0198	0,0342	0,0576
		b	0,0192	0,0231	0,0156
„	2	a	0,0165	0,0495	0,1320
		b	0,0183	0,0265	0,0328

Non è però possibile attribuire a ciò la causa della sterilità, anzitutto perchè il terreno è abbondantemente provvisto di azoto, in secondo luogo perchè è dubbio che il perfosfato possa avere sì marcata azione sugli azotofissatori, in terzo luogo perchè l' azione di questi sulla vegetazione si farebbe sentire solo dopo molti e molti giorni mentre l' azione del perfosfato è, si può dire, istantanea.

Ricerca dell' anidride fosforica assimilabile

Allo scopo di indagare se l' azione svolta in questi terreni dal perfosfato potesse o non riportarsi ad un puro e semplice effetto con-

cimante, sebbene all' analisi chimica i due suoli in esame non accusassero deficienza di anidride fosforica sia totale che solubile in acidi deboli (acido citrico al 2 %), volli ricercare quale fosse la quantità di anidride fosforica facilmente assimilabile.

Ciò feci col metodo micologico PANTANELLI consistente come è noto, nel far assimilare da un fungo *(Aspergillus niger)* il fosforo del terreno e dosandolo successivamente nel feltro fungino.

Allo scopo allestii quattro scatole di KOCH contenenti ciascuna cc. 200 di una soluzione al 10 % di saccarosio ed al 2 % di solfato ammonico, con aggiunta rispettivamente di:

Scatola di Koch n° 1	gr. 100	di terreno N. 1 a
„ „ „ 2	„ 100	„ „ 2 a
„ „ „ 3	„ 100	di buona terra di giardino (profondità cm. 10)
„ „ „ 4	„ 1	di fosfato tricalcico.

Sterilizzai il tutto in autoclave a 120° C. per tre volte consecutive in giorni diversi, insemenzai con uno stesso stemperamento acquoso di conidi di *Aspergillus niger*, nella stessa quantità in ciascuna piastra (cm^3 5) e coltivai in termostato a 26-27° C. per 7 giorni. Alla fine del 7° giorno osservai lo sviluppo nei vari recipienti. Esso si presentava come segue:

Scatole di Koch N. 1 e 2 – sviluppo abbondante, feltro continuo spesso e compatto, abbondantemente fruttificato.

Scatola di Koch N. 3 – sviluppo appena visibile di minuscole colonie sparse, imponderabili, non fruttificate.

Scatola di Koch N. 4 – sviluppo mediocre, feltro continuo ma molto tenue, fruttificazione appena accennata.

Prelevai dai recipienti n° 1 – 2 – 4 il feltro fungino con le debite precauzioni per evitare sia il disperdimento dei conidi, sia l'esportazione di terra o di materiale fosfatico inorganico ed analizzai separatamente i tre materiali ottenuti; all'analisi risultarono i dati riportati nella Tab. III.

TABELLA III

	Sostanza organica seccata a 100°C.	Ceneri		P_2O_5	
		assolute	% sost. secca	assoluta	% ceneri
Scatola n° 1 (torba sterile)	2,8100	0,2276	8,1	0,0849	37,30
Scatola n° 2 (torba coltivata)	3,0614	0,2510	8,2	0,0937	37,35
Scatola n° 3 (terra di giardino)	tr.	—	—	—	—
Scatola n° 4 $Ca_3(PO_4)_2$	0,2460	0,0196	7,9	0,0072	37,20

Da queste cifre si può desumere che nel campione 1a è contenuta una notevole quantità di anidride fosforica assimilabile, pari al quadruplo di quella solubile in acido citrico al 2 % ed alla metà di quella totale, ciò che costituisce una percentuale elevatissima e una quantità assoluta molto forte. Nel terreno 2a l'anidride fosforica assimilabile è nelle stesse proporzioni che nel precedente; nella terra di giardino (prelevata dall'orto sperimentale dei Laboratori di Biologia Vegetale) è pressochè nulla e nel fosfato tricalcico è circa 1/6 della totale.

In base al metodo sperimentato non è quindi il caso di parlare di mancanza di assimilabilità dell'anidride fosforica contenuta nel terreno, specie se si considera che nella terra di giardino sperimentata, pur non riscontrandosi fosforo assimilabile, tutte le coltivazioni sono tecnicamente possibili con buoni rendimenti e senza alcuna aggiunta di concimi fosfatici.

È però da osservare a questo punto quanto si è già rilevato in un precedente lavoro circa l'attendibilità del metodo micologico PANTANELLI: la diversa struttura dei terreni (soffice e permeabile la torba, compatta e argillosa la terra di giardino) porta ad una diversa utilizzazione del fosfato da parte del fungo in quanto la terra argillosa si deposita al fondo del recipiente in uno strato compatto ed impermeabile.

Prove di vegetazione

Non furono seguite su questo terreno vere e proprie prove di vegetazione, ma si volle semplicemente determinare se e come vegetassero in esso le piante.

Le ricerche eseguite miravano a stabilire se il terreno in esame presentasse fenomeni di intossicamento: se, cioè, in esso si trovassero sostanze tossiche capaci di produrre fenomeni di lisi od altro nelle giovani radici.

A questo scopo furono mescolati gr. 500 del terreno torboso anormale con cc. 1000 di acqua, ed altrettanto si fece per il campione di terreno a coltura.

I due miscugli si lasciarono in beute agitate di frequente ed al termine di una settimana si filtrò il liquido.

In due scatole di Koch si pose il filtrato, in altre due la torba rimasta sul filtro. In ciascuna scatola furono poste 10 piantine di frumento giovanissime (germinate da 10 giorni), mantenendo il tutto in una serra con aggiunte di acqua man mano che evaporava.

Ogni settimana si prelevava qualche frammento di radice da ciascun recipiente e si portava sotto il microscopio per osservarne lo sviluppo e lo stato di conservazione dei peli radicali.

Inoltre venivano eseguite anche sezioni per studiare eventuali alterazioni della struttura dei tessuti.

Durante queste osservazioni non fu dato di osservare il benchè minimo indizio di alterazione delle radici.

Le piantine di frumento crebbero e si svilupparono in tutti e quattro i recipienti senza che neppure uno ne morisse. Naturalmente si ebbero piante nane che alla fioritura non misuravano oltre i cm. 30 - 35 di altezza, ma perfettamente conformate e con colorazione verde del tutto normale. Le radici non presentavano tracce di annerimento, necrosi, desquamazione od altro neppure nella parte più vecchia, sotto il colletto.

CONCLUSIONI

Dalle ricerche di cui ho riferito non risulta evidente la causa della mancata produttività del suolo in esame: la deficienza di germi

ed il basso potere azotofissatore e nitrificatore sono molto probabilmente da attribuire alla stessa origine della sterilità di cui non possono, sebbene in misura molto limitata, che accrescere la portata. Tutt'al più può ad esse attribuirsi il ruolo di concause ma con importanza del tutto secondaria.

Ricapitolando i fatti che si presentano nella pratica agraria si ha, in questi terreni torbosi, un fenomeno di vera e propria sterilità che si manifesta con uno sviluppo lento e stentato del frumento il quale finisce col perire completamente senza poter reagire alle cause nemiche di qualunque natura esse siano.

Tale sterilità si elimina mediante aggiunta di forti dosi di perfosfato minerale sia all'atto della lavorazione del terreno sia in copertura.

Esaminando brevemente la questione del lato biologico e da quello chimico quattro potrebbero essere gli effetti principali dell'azione del perfosfato:

I - apporto di materiale nutritivo per la pianta sotto forma di anidride fosforica facilmente solubile.

II – apporto di materiale nutritivo per la flora microbica del suolo e sua conseguente attivazione.

III – azione coagulante sulle sostanze tossiche (tossine).

IV – flocculazione dei colloidi del terreno.

Escluse dunque, per quanto ho riferito sopra, le cause di sterilità di ordine batteriologico, escluse quelle di natura chimica perchè all'analisi batteriologica e chimica non risultano deficienze tali da giustificare sì gravi manifestazioni; escluse ancora quelle di natura tossicologica perchè nulla autorizza a supporle dopo le prove da me condotte, non rimane, fra le cause probabili del fenomeno, che da prendere in esame quelle relative alle condizioni fisico-chimiche del terreno.

Da ricerche eseguite nel corso di questo lavoro risulta – ed il fatto è ben noto – che il perfosfato è capace di coagulare i colloidi sia organici che minerali.

Infatti, aggiungendo a filtrati, provenienti da stemperamenti acquosi di terreno argilloso, di torba e di gelatina, perfosfato, si nota la coagulazione quasi immediata del colloide disperso nel mezzo, con evidente e pronta chiarificazione del mezzo stesso.

Ciò autorizza a pensare che l'azione del perfosfato su questi terreni torbosi ad altro non debba ascriversi che ad una profonda modificazione dell'assetto colloidale del suolo con evidente vantaggio della vegetazione.

Il suolo in esame sarebbe cioè troppo ricco di colloidi che impedirebbero un anormale sviluppo delle piante coltivate. Eliminati i colloidi per effetto della coagulazione con perfosfato, la vita vegetale riprenderebbe il suo normale andamento.

Il disturbo prodotto dai colloidi, specie in grado molto avanzato di dispersione, potrebbe riportarsi benissimo ad un fatto osmotico.

RIASSUNTO

Indagini biologiche e batteriologiche di un terreno della bonifica di Vecchiano nel quale si manifestano gravi perturbazioni delle colture di frumento, eliminantesi con forti aggiunte di perfosfato minerale, lasciano presumere la favorevole influenza della coagulazione dei colloidi del suolo da questo determinata.

Pisa, Laboratorio di Biologia vegetale
del R. Istituto Superiore Agrario

(Presentata il 18 Luglio 1934 - XII)